云 南 植 物 研 究 2010，**32**(3)：230～238
Acta Botanica Yunnanica DOI：10.3724/SP.J.1143.2010.09240

几种同域分布姜花属植物的种间杂交亲和性及杂交后代种子活力

甘 甜[1,2]，李庆军[1]
（1 中国科学院西双版纳热带植物园，云南 昆明 650223；2 中国科学院研究生院，北京 100049）

摘要：种间配子不亲和以及种间杂交种子活力低是众多的物种间杂交隔离机制中的两个方面。通过对云南澜沧地区分布的4种（型）姜花属植物——圆瓣姜花（*Hedychium forrestii*）、草果药（*H. spicatum*）、两类型滇姜花（*H. yunnanense*）间进行野外杂交试验，比较杂交结实率、每果种子数以及杂交种子的萌发参数等指标来分析4种（型）姜花之间的杂交亲和性和杂交后代表现，发现4种（型）姜花属植物配子间都具有不同程度的亲和性，但种间杂交种子的萌发适合度比同种授粉获得的种子低。结果表明，这4种（型）姜花属植物间配子亲和性不是有效的种间隔离机制，种间杂交种子活力低是一种不完全的隔离机制，它们在同域分布的地区，仍然有形成杂交后代的可能性。

关键词：姜花属；种间杂交；配子亲和性；杂交种子活力
中图分类号：Q 321 **文献标识码**：A **文章编号**：0253-2700(2010)03-230-09

The Crossability and Hybrid Seed Vigor among Several Sympatric *Hedychium* (Zingiberaceae) Species

GAN Tian[1,2]，LI Qing-Jun[1]
(1 *Xishuangbanna Tropical Botanical Garden*，*Chinese Academy of Sciences*，Kunming 650223，China；
2 *Graduate University of Chinese Academy of Sciences*，Beijing 100049，China)

Abstract：Gametic incompatibility and low hybrid seed vigor are two of multiple species reproductive barriers. In order to infer the gametic incompatibility and hybrid seeds fitness of sympatric populations among *Hedychium forrestii*，*H. spicatum* and two morphs of *H. yunnanense*，we have done a set of field cross experiments among these *Hedychium* species in Lancang，Yunnan Province，and then compared the fruit set，seed number per fruit and germination data of seeds from cross experiments. The experiments showed that the gametic compatibility between these species are different，and the germination performances of hybrid seeds are worse than the intraspecies outcrossed seeds. These results suggested that gametic incompatibility is not the effective reproductive barrier among these species and hybrid seeds fitness is the incomplete reproductive barrier among these *Hedychium* species，which indicated that hybridization may exist among them.
Key words：*Hedychium*；Interspecies cross；Gametic compatibility；Hybrid seed vigor

种间隔离机制是生物学家探讨物种形成的关键问题之一，也是维持物种多样性和遗传漂变的保证（Rieseberg，2007）。通常，种间隔离机制由不同的部分组成，其中，生态地理隔离长期以来被看作是植物种间隔离机制中最重要的环节之一，在许多关于近缘种或亚种的交互移栽试验中，近缘种和亚种对于生境的偏好也证实了生态地理隔离机制的重要性（复旦大学遗传研究所，1963）。近年来，没有地理隔离的同域物种形成和分化问题成为进化生物学家们所争论的热点问

收稿日期：2009-11-27，2010-04-08 接受发表
作者简介：甘甜（1983－）女，硕士研究生，研究方向为姜花属物种形成。E-mail：gantian1220@163.com

题（Savolainen 等，2006），而同域物种的种间隔离机制是同域物种形成和分化的保证。大部分有花植物依赖昆虫授粉以实现繁殖成功，大量研究表明泛化传粉是有花植物普遍的传粉形式，同一传粉昆虫倾向拜访同时开花的不同植物（Johnson and Steiner，2000；Waser 等，1996；张敬丽等，2007）。因此，传粉者的访花行为可能不足以隔离同域分布花期重叠的同属植物间的基因交流。杂交亲和性作为同域分布近缘种间重要的隔离机制，包括合子前隔离机制——配子亲和性，也包括合子后隔离机制，如杂交种子活力。因此，开展近缘植物种间的杂交亲和性研究对于了解同域物种的隔离分化具有重要的意义。自然状况下，植物界中营养繁殖和单亲生殖（即无融合生殖）现象以及杂交、多倍化等现象的存在，使得植物的进化呈复杂的网状，物种形成及生殖隔离常涉及到多个物种（Grant，1981；Abbott 等，2005）。

姜花属（*Hedychium* J. König）属于热带单子叶植物大科姜科（Zingiberaceae），全世界约有 80 种，中国分布有 28 种左右，其中 18 种为特有种（Wu and Larsen，2000）。该属是一个单系起源类群（Kress 等，2002）。喜马拉雅地区为其现代分布中心，大部分种类可能是第三纪以后，随着青藏高原的隆起而分化出来的（吴德邻，1994）。该属植物多年生，具有异交繁育系统，同域分布现象普遍（高江云等，2006）。自然居群疑似杂交类群，在形态特征上表现为花部特征的连续性（Wood 等，2000；高江云等，2006），这暗示该属植物的自然杂交频繁。姜花属植物花型奇特，雌、雄蕊外伸，位于远离花瓣的一侧，是姜科中少数具有不对称花的类群之一。姜花属植物的每一个花粉囊有一层具有分泌功能的毛，能分泌胶液覆盖花粉，使花粉能粘到传粉的鳞翅目昆虫的翅膀上（Vogel，1984）。在已研究过的白姜花（*H. coronarium*）（Müller，1890；Kunckel d'Herulais，1910）、红姜花（*H. coccineum*）、毛姜花（*H. villosum* var. *villosum*）和小毛姜花（*H. villosum* var. *tenuiflorum*）（高江云，2008）中，有效传粉昆虫都为蝶类或天蛾。该属生活习性中多年生、行营养繁殖、异交为主等特点与 Ellstrand（1996）描述的易于发生自然杂交物种类群的特征相同。这些特点使得姜花属植物成为研究种间隔离机制的演化以及种间杂交物种形成的理想材料。高丽霞等（2008）以 SRAP 技术对姜花属内分类关系做过探讨，认为小苞片内小花数的多少是属内分类的重要特征，但是姜花属种间隔离机制尚未见研究，种间杂交试验研究仅有熊友华等（2006）对外来种金姜花（*H. gardnerianum*）和广州本地种白姜花（*H. coronarium*）的正反交育种研究，而对自然居群中同域物种间的杂交试验尚未见报道。

云南省普洱市澜沧县佛房山地区分布有大量的姜科植物，仅姜花属植物就分布有 4 个种 5 个类型，包括圆瓣姜花（*H. forrestii*）、草果药（*H. spicatum*）、两个类型的滇姜花（*H. yunnanense*）以及红姜花（*H. coccineum*），它们都属于姜花亚属，其中，草果药和滇姜花是姐妹类群（高丽霞等，2008）。这些姜花中，除了红姜花在花色、叶形等方面与其它种（型）差异较大外，其它 4 种（型）姜花都为白色或黄白色，分布生境相似，花期相近或有重叠。这暗示几个类群间可能存在杂交。本文拟对这些姜花属植物进行种间隔离机制的初步研究，通过对这几种姜花属植物野外杂交授粉试验的座果率与每果种子数，以及杂交后代的萌发表现（种子萌发率、平均发芽时间、发芽指数），回答以下两个问题：（1）这几种（型）间杂交的配子亲和性如何？（2）它们种间杂交的种子活力如何？

1　材料与方法

1.1　研究地点自然概况

野外观测和试验地点位于云南省普洱市澜沧拉祜族自治县县城附近佛房山（22°35.646′N 99°59.252′E，海拔 1 737 m）。当地为酸性土壤，南亚热带夏湿冬干山地季风气候，2008 年年均温 19.8℃，年均降雨量为 1 737.3 mm（张晓改，2008），全年分为明显的干季（10 月下旬～次年 5 月中旬）与雨季（5 月中旬～10 月下旬）。

1.2　研究材料

4 种（型）姜花都为高大的多年生草本植物，陆生，具有肉质地下茎，可以以地下茎行营养生殖。假茎直立，生活环境为有荫蔽环境的阳坡或林中空地。4 种（型）姜花都为顶生穗状花序；除了圆瓣姜花每小花序有 2～5 朵小花外，其它 3 种（型）每花序都只有 1 朵小

花。小花序最外有小苞片及花萼管，花冠顶部裂成三裂，为背裂片及两个腹裂片，基部形成管状。花丝伸出花冠外，花药背部着药，花柱包于花丝内，柱头从两个花粉囊间伸出。在花序上，伸出的花丝及花药、柱头斜着歪向一侧。4种姜花都有很明显的香味。各个种的形态特征及地理分布如表1。

1.3　研究方法

1.3.1　野外杂交授粉实验　授粉实验于2008年8月18日至23日在选定的试验样地开展。每天上午对次日即将开放的花朵去雄（由于姜花花柱位于花丝内，为保证不伤害花柱及不触碰柱头，用镊子小心地去除未开裂散粉的花药），并将其它已经开放以及发育尚小的花朵剪去，最后标记套袋以隔离传粉昆虫（4种（型）姜花每花序处理数不超过10朵花）。次日，采集刚开放花朵中的花药备用，进行以下授粉实验：（1）种间杂交：分别以草果药、圆瓣姜花、滇姜花（紫茎型P）、滇姜花（白茎型W）这4种（型）各为母、父本进行杂交授粉处理，其中，由于滇姜花（白茎型）处于花期末，以滇姜花（白茎型）为母本处理组中，只进行以草果药和滇姜花（紫茎型）为父本的授粉处理；（2）同种异株授粉，包括草果药、圆瓣姜花、滇姜花（紫茎型）（由于滇姜花（白茎型）处于花期末，植株较少，未进行异交授粉处理）。果熟后统计座果率（成熟果实数目除以处理的果实数目）、每果种子数（每果内所得成熟种子数）。2008年11月26日回收处理的果实。具体杂交组合的处理花数、植株数、回收果数、回收植株数见表2。

1.3.2　种子活力的测定　种子在收集后去除果皮、假种皮并储存于4℃冰箱中6个月。由于收集时圆瓣姜花及滇姜花（紫茎型）果实为绿色、未开裂，种子成熟度不够，导致圆瓣姜花及滇姜花（紫茎型）为母本的种子萌发实验失败，仅对以草果药以及滇姜花（白茎型）为母本的种子活力顺利进行了测定。萌发实验的种子材料具体如下：滇姜花（白茎型）（自然对照），80粒；滇姜花（紫茎型）×滇姜花（白茎型），64粒；草果药（自然对照），100粒；草果药（异交），100粒；滇姜花（紫茎型）×草果药，100粒；滇姜花（白茎型）×草果药，37粒；圆瓣姜花×草果药，40粒。

种子在恒温光照培养箱（型号MGC-250，上海一恒科学仪器有限公司）中，模拟野外田间自然萌发条件（27℃ 14 h，光照12 000 lx；20℃ 10 h，黑暗）进行种子萌发实验，萌发前蒸馏水漂洗5 min，70%乙醇浸泡30 s，蒸馏水漂洗干净；最后，在培养皿中以双层滤纸为基底，加入蒸馏水进行萌发。

以胚根长度伸出种子1～2 mm为萌发标准，每天统计萌发情况，并补充适量蒸馏水。实验时间为2009年5月21日至2009年6月17日。计算萌发率、平均萌发时间、发芽指数三项指标。（吴之坤 等，2005；李亚等，2007；管康林，2009）

表1　4种（型）姜花特征、花期、果期及地理分布范围

Table 1　Character, flowering time, fruit time and distribution of 4 *Hedychium* species (type)

特征 Character	圆瓣姜花 *H. forrestii*	草果药 *H. spicatum*	滇姜花（紫茎型） *H. yunnanense* （P）	滇姜花（白茎型） *H. yunnanense* （W）
叶舌长 Ligule length	1～1.6 cm	1～1.6 cm	4 cm	2 cm
花期 Flowering season	8～10月	7～8月	8～9月	7月下旬～8月下旬
果期 Fruiting season	11～12月	10～11月	10～11月	9～10月
染色体倍性数目 Ploidy level and number of chromosome	四倍体，$2n=68$ （甘甜，未发表数据）	$2n=34$ （Wu and Larsen, 2000）	四倍体，$2n=68$ （甘甜，未发表数据）	二倍体，$2n=34$ （甘甜，未发表数据）
分布地区 Distribution	云南腾冲、大理、楚雄至广通、蒙自、西双版纳、西畴、马关、文山、富宁等地；四川；贵州和西藏（童绍全，1997）	云南中部至西北部；四川；贵州；西藏；尼泊尔；印度（童绍全，1997）	云南昆明、绿春、孟连；四川；广西（童绍全，1997）	
分布海拔 Altitude	600～2 100 m （童绍全，1997）	1 900～2 800 m （童绍全，1997）	1 700～2 200 m（童绍全，1997）	

表2　野外人工授粉实验处理及回收果数

Table 2　The number of treated fruit and recruited fruit of field artifitial pollination experiment

处理组（父本×母本） Treatment (Male parent/ female parent)	处理花数 No. of treated flower	处理植株数 No. of treated individual	回收果数 No. of recruited fruit	回收植株数 No. of recruited individual
草果药（异交） *H. spicatum* outcrossed	35	5	23	5
圆瓣姜花×草果药 *H. forrestii* × *H. spicatum*	71	10	45	10
滇姜花（紫茎型）×草果药 *H. yunnanense* (P)× *H. spicatum*	37	7	29	7
滇姜花（白茎型）×草果药 *H. yunnanense* (W)× *H. spicatum*	26	7	10	7
圆瓣姜花（异交） *H. forrestii* outcrossed	12	2	12	2
草果药×圆瓣姜花 *H. spicatum* × *H. forrestii*	13	3	13	3
滇姜花（紫茎型）×圆瓣姜花 *H. yunnanense* (P)× *H. forrestii*	16	4	10	4
滇姜花（白茎型）×圆瓣姜花 *H. yunnanense* (W)× *H. forrestii*	5	1	—	—
滇姜花（紫茎型）（异交） *H. yunnanense* (P) outcrossed	32	4	17	4
草果药×滇姜花（紫茎型） *H. spicatum* × *H. yunnanense* (P)	60	7	41	6
圆瓣姜花×滇姜花（紫茎型） *H. forrestii* × *H. yunnanense* (P)	58	7	43	7
滇姜花（白茎型）×滇姜花（紫茎型） *H. yunnanense* (W)× *H. yunnanense* (P)	48	5	26	5
草果药×滇姜花（白茎型） *H. spicatum* × *H. yunnanense* (W)	2	1	—	—
滇姜花（紫茎型）×滇姜花（白茎型） *H. yunnanense* (P)× *H. yunnanense* (W)	9	1	9	1
总计 total	424	64	278	61

注：—表示数据缺失。Note：—indicates data missing

三项指标计算公式如下：

萌发率＝正常发芽总数/供试种子总数×100％

发芽指数＝∑（（第 i 天的发芽数/供试种子总数×50）/相应的萌发天数）

平均发芽时间＝∑（第 i 天发芽数×萌发天数）/∑第 i 天发芽数

1.3.3　*统计分析方法*　将座果率和每果种子数的各处理结果以不同的母本物种进行分组比较。所有数据采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。因试验座果率样本量小及每果种子数数据不符合正态分布，统计分析时采用非参检验，以 Kruskal-Wallis 检验先进行差异显著性比较，Mann-Whitney 检验进行两两比较。

2　结果

2.1　杂交授粉试验

2.1.1　*座果率比较*　除滇姜花（白茎型）为母本的处理组（66.7％）无法比较外，草果药作母本的处理间差异显著（P＝0.004），其它处理组内差异不显著。草果药作母本的各处理间，座果率最高为草果药（异株）及滇姜花（紫茎型）作父本的（分别为 84.4％、81.9％），滇姜花（白茎型）作父本的次之（54.8％），圆瓣姜花作父本的最低（27.0％）。各授粉处理座果率详见表 3。

2.1.2 *每果种子数比较* 比较每果种子数，除滇姜花（白茎型）作母本的授粉处理少，组内无法比较外，圆瓣姜花作母本的处理组内无显著差异，而草果药、滇姜花（紫茎型）作母本的处理组内差异显著。各授粉处理每果种子数详见表3。

草果药作母本的授粉处理间差异显著（$P=0.006$）。其中，不同父本处理差异水平由高至低分别为草果药（异株）（12.00±5.39）、滇姜花（紫茎型）（11.11±6.74）；滇姜花（白茎型）次之（7.20±2.86）；圆瓣姜花最低（4.67±2.87）。

滇姜花（紫茎型）作母本的各处理间有显著差异（$P=0.004$）。不同父本处理由高至低分别为：滇姜花（紫茎型）（异株），7.73±5.93；滇姜花（白茎型），7.45±5.11；草果药，6.00±3.00；圆瓣姜花，3.31±2.53。

滇姜花（白茎型）与滇姜花（紫茎型）的授粉处理每果种子数为10.67±5.50。

2.2 种子萌发试验

5个人工授粉组合及2个对照所得到的种子萌发结果如表4所示。异交授粉的草果药萌发率最高，且生长势一致，种子发芽后比较健壮；各杂交处理种子三项萌发参数表现都较自然结实对照差。草果药作母本的各处理间，草果药同种异交种子表现最优，而滇姜花（白茎型）为父本的杂交处理表现最差。滇姜花（白茎型）为母本的两处理间，自然结实种子处理表现优于滇姜花（紫茎型）为父本的杂交处理。

草果药作母本各处理的最终萌发率由高至低分别为：草果药同种异株授粉处理（92.0%），自然结实对照（65.0%）、滇姜花（紫茎型）（65.0%）、圆瓣姜花（55.0%）、滇姜花（白茎型）（24.3%）；发芽指数由高至低授粉组合分别为：草果药同种异株授粉处理（6.554）、草果药自然结实对照（5.740）、以圆瓣姜花（4.210）、滇姜花（紫茎型）（4.063）、滇姜花（白茎型）（2.192）为父本；平均发芽时间由短至长分别为：草果药同种异株授粉处理（14.99 d）、自然结实对照（15.80 d）、以圆瓣姜花（17.07 d）、滇姜花（紫茎型）（18.46 d）、滇姜花（白茎型）（19.04 d）为父本。

滇姜花（白茎型）作母本的两处理自然结实对照及滇姜花（紫茎型）作父本的最终萌发率分别为：70.0%，4.69%；发芽指数分别为：4.385，0.178；平均发芽时间分别为：19.22 d，26.60 d。

表3 杂交授粉试验座果率与每果种子数

Table 3 Fruit set and seed number per fruit of the four *Hedychium* species under different hand pollination treatments

授粉方式 Aritificial pollination treatment	草果药♀ *H. spicatum*		圆瓣姜花♀ *H. forrestii*		滇姜花（紫茎型）♀ *H. yunnanense* (P)		滇姜花（白茎型）♀ *H. yunnanense* (W)	
	座果率 Fruit set	每果种子数 Seeds per fruit	座果率 Fruit set	每果种子数 Seeds per fruit	座果率 Fruit set	每果种子数 Seeds per fruit	座果率 Fruit set	每果种子数 Seeds per fruit
草果药♂ *H. spicatum*	84.4% (20/23) a	12.00±5.39，($n=20$) a	77.8% (8/13)	9.88±4.88，($n=8$)	59.7% (25/41)	6.00±3.00，($n=23$) bc	——	——
圆瓣姜花♂ *H. forrestii*	27.0% (13/45) bc	4.67±2.87，($n=9$) c	21.4% (3/10)	7.33±2.52，($n=3$)	33.3% (13/43)	3.31±2.53，($n=13$) cd	——	——
滇姜花（紫茎型）♂ *H. yunnanense* (P)	81.9% (24/29) a	12.00±5.99，($n=16$) a	58.3% (6/10)	10.33±8.66，($n=6$)	68.9% (11/17)	7.73±5.93，($n=11$) ab	66.7% (6/9)	10.67±5.50，($n=6$)
滇姜花（白茎型）♂ *H. yunnanense* (W)	54.8% (5/10) ab	7.20±2.86，($n=5$) b	——	——	75.9% (20/26)	7.45±5.11，($n=20$) ab	——	——

注：a、b、c（a＞b＞c）示意非参数检验多重比较结果水平，——表示数据缺失。

Note: statistically grouping based on a nonparametric analysis of variance are indicated by the same different letter (a＞b＞c), —— indicates data missing

表4　萌发试验种子萌发率、萌发指数、平均萌发时间

Table 4　Germination rates, index and average time of seed germination experiment

处理组 Treatment	滇姜花（紫茎型）×滇姜花（白茎型） *H. yunnanense*（P）× *H. yunnanense*（W）	滇姜花（白茎型） *H. yunnanense*（W） （natrual control）	草果药 *H. spicatum* （natrual control）	草果药（异交） *H. spicatum* （outcrossed）	滇姜花（紫茎型）×草果药 *H. yunnanense*（P）× *H. spicatum*	滇姜花（白茎型）×草果药 *H. yunnanense*（W）× *H. spicatum*	圆瓣姜花×草果药 *H. forrestii* × *H. spicatum*
最终萌发率（%） Final germination rate	4.69	70.00	65.00	92.00	65.00	24.30	55.00
萌发指数 Germination index	0.178	4.385	5.740	6.554	4.063	2.192	4.210
平均萌发时间（天） Mean generation time	26.60	19.22	15.80	14.99	18.46	19.40	17.07

3　讨论

杂交授粉结果显示，4 种姜花间种间杂交可以结实，即它们之间都具有一定的种间亲和性；杂交种子的活力测定结果表明，种间杂交种子虽然有一定的活力，但显著低于同种异交种子。

3.1　4 种（型）姜花间的配子亲和性

4 种（型）姜花间杂交授粉所得的座果率和每果种子数反映了种间配子亲和性的大小。座果率与每果种子数越高，种间配子亲和性越高。实验结果表明，这 4 种（型）姜花种间杂交都能形成果实和种子，即它们之间都具有一定的配子亲和性。

以座果率及每果种子数推断的种间配子亲和性中，与草果药和圆瓣姜花亲和性最高的都是滇姜花（紫茎型）；而与滇姜花（紫茎型）亲和性最高的是滇姜花（白茎型）。以草果药为母本、滇姜花（紫茎型）为父本的种间配子亲和性与草果药的种内配子亲和性相似；以滇姜花（白茎型）为父本的种间配子亲和性低于草果药的种内配子亲和性；而以圆瓣姜花为父本的种间配子亲和性最低。滇姜花（紫茎型）为母本的杂交组合，与滇姜花（白茎型）、草果药的种间配子亲和性都与种内配子亲和性相当，而与圆瓣姜花的种间配子亲和性最低。

高丽霞等（2008）建议根据每小花序中小花数的多少来划分姜花属。这 4 种（型）中，圆瓣姜花为每小花序具 3 至多枚小花，其它 3 种（型）每小花序具 1 枚小花。并且，高丽霞等（2008）研究的种类中，草果药及滇姜花关系最近。实验中以草果药及滇姜花（紫茎型）为母本的杂交组合配子亲和性表明圆瓣姜花与其它 3 种（型）姜花亲缘关系更远，也间接支持了高丽霞等（2008）的结论。

4 种（型）姜花间配子亲和性的不同可能是受花粉活力不同的影响。进行野外实验时，盛花期的草果药、滇姜花（紫茎型）的花粉活力可能较高，而花期刚开始的圆瓣姜花及花期快结束的滇姜花（白茎型）的花粉活力可能未达到最高水平，导致这几种植物间以草果药、滇姜花（紫茎型）为父本的杂交座果率及每果种子数更高。

在假设花粉活力都正常的前提下，这几种姜花的形态特征与配子亲和性相关。

形态上，滇姜花（紫茎型）、滇姜花（白茎型）及草果药间相似性大。从假茎高度及假茎颜色等营养器官判断，滇姜花（紫茎型）与草果药相似，从小花形态判断，滇姜花（白茎型）与滇姜花（紫茎型）相似，而滇姜花（白茎型）与草果药间易于区分。这与 3 种（型）间的座果率及每果种子数所表现的种间配子亲和性也相对应，即滇姜花（紫茎型）作为父本与草果药亲和性高，作为母本与滇姜花（白茎型）亲和性高，而草果药与滇姜花（白茎型）亲和性略低。依据形态相似性及配子亲和性的高低推断，与草果药、滇姜花（白茎型）亲缘关系最近的都为滇姜花（紫茎型），而滇姜花（紫茎型）与滇姜花（白茎型）亲缘关系最近。

除了与形态相对应的配子亲和性外，圆瓣姜花作为父、母本配子亲和性不一致。圆瓣姜花作为母本，虽然无显著差异，但与其它姜花的亲和性比同种异交对照高。假如圆瓣姜花的花粉活力

在授粉时候低，可能会造成这种情况的发生，并导致对其它植物进行种间杂交后的座果率及每果种子数都低。在假设花粉活力一致的情况下，我们有以下推断。授粉后阻障根据发生作用的先后顺序，可分为多种，已知的机制有：花粉附着柱头能力差、萌发率低、花粉管生长速度低、花粉管损耗（pollen tube attrition）（Yost and Kay，2009），Yost and Kay（2009）对闭鞘姜（*Costus*）进行的26个杂交组合试验研究表明：当父本花柱短于母本花柱时，杂交结籽率显著降低，暗示有花粉管损耗。花柱的长短与花粉管的生长具有相关性，很多细致的研究表明，长花柱有利于促进花粉管竞争从而提高雌性适合度（Kay，2006；Lankinen and Skogsmyr，2001），但是为了适应特定传粉者的大小和形状，又需要植物必须形成短而适当长度的花柱（杨春锋和郭友好，2005）。4种（型）姜花间花柱长度无显著差异，但圆瓣姜花的花柱稍短于其它3种（型）（甘甜，未发表数据），从短至长分别为圆瓣姜花7.91±2.93 cm（n=20）、滇姜花（紫茎型）9.13±2.53 cm（n=25）、草果药9.50±3.71 cm（n=29）和滇姜花（白茎型）9.89±0.44 cm（n=33）。在本研究中，圆瓣姜花作为短花柱物种，可能由于其花粉管在其它物种花柱中生长的长度短难以到达胚珠，从而导致圆瓣姜花作为父本形成的杂交座果率、每果种子数较低；但反过来，圆瓣姜花作为母本，由于其它物种花粉管生长长度大于其花柱长度，使得圆瓣姜花作为母本与其它几种姜花杂交的座果率、每果种子数较高。这个推测还需要进一步的实验研究来证实，但这个现象从一定程度上说明，这几种（型）间正反杂交的阻障强度是不同的，如熊友华等（2006）研究所示，白姜花与金姜花正反交育种结实率不同。相比草果药与两类型滇姜花之间，以圆瓣姜花为父本与其它姜花间的配子不亲和作为种间隔离机制发挥的作用更大。

3.2　杂交种子活力

杂交种子活力大小是物种间合子后阻障的一部分。种子活力水平取决于其遗传特性及种子发育过程的生态环境（管康林，2009）。遗传特性为种子活力所固有的，而发育条件则影响活力的表达。在一致的发育和发芽条件下，从种子活力的高低，可以推测出不同杂交组合种子的遗传特性高低，从而推断出不同杂交组合合子后阻障的高低。

种子萌发时间、萌发指数及萌发率都能反映种子活力。萌发时间越短、萌发指数越高、萌发率越高，说明种子活力越高。

从本研究的三项种子萌发参数上看，以草果药为母本，同种异交所得的草果药种子活力最高，其次是自然结实种子，第三是以滇姜花（紫茎型）为父本和圆瓣姜花为父本的杂交种子，而以滇姜花（白茎型）为父本的杂交种子的活力最低。以滇姜花（白茎型）为母本，滇姜花（紫茎型）与滇姜花（白茎型）的杂交种子的活力明显低于滇姜花（白茎型）自然结果的种子，这表明对于草果药和滇姜花（白茎型）而言，杂交种子的种子活力较自然结果种子的低，具有一定的生殖隔离作用。

同种异交处理种子活力比自然结实种子活力更高，符合预期。姜花属植物为鳞翅目昆虫传粉，由于其传粉过程等因素的限制，很难彻底避免自体授粉（包括同株异花授粉和自花授粉）。与异交后代相比，自交后代由于其高水平的遗传纯合度而降低了后代质量，即近交衰退（张大勇，2004），表现为种子活力低。杂交种子活力低于同种异交对照及自然对照，说明合子后杂种活力具有一定的隔离作用。

草果药作为母本，与其它植物的杂交种子都有一定的活力。一方面，这可能是由于这几种姜花间遗传成分近导致的杂交种子表现出具有活力，另一方面，遗传成分异质性导致的后代适应性低可能在种子萌发之后的生活史时期表现出来。

虽然从形态来看滇姜花（紫茎型）和滇姜花（白茎型）间相似性高，但它们在染色体倍性上具有明显的差异。紫茎型为四倍体，白茎型为二倍体（甘甜，未发表数据），它们之间杂交产生的三倍体种子活力低；草果药为二倍体（Wu and Larsen，2000），与滇姜花（白茎型）倍性相同，但杂交种子的种子活力仍然较低；而滇姜花（紫茎型）与草果药的三倍体杂交种子活力稍高。这可能是与研究的个体数据太少有关，也有可能是由于在这几个种间，染色体倍数与杂交亲和性没有完全的相关性。如，Gajewski（1957）对蔷薇科水杨梅属 *Geum* 的田间试验表明，杂交中 *Eugeum* 亚属中的任何两种间（包括不同染色体

倍性水平）可以杂交；龚洵等（2001）的报道表明不同染色体倍性的山木兰（*Magnolia delavayi*）（$2n=38$）与大花木兰 *Magnolia grandiflora*（$2n=114$）之间有很高的亲和性。更有可能的是，草果药居群也存在不同倍性水平的现象。假如试验的草果药为四倍体，则其与滇姜花（紫茎型）为同倍体，杂交种子活力高可以解释，而与二倍体的滇姜花（白茎型）杂交产生的三倍体种子活力低也符合预期，这需要进一步检测草果药的染色体倍性水平。另一个可能的原因是，草果药与滇姜花（紫茎型）间在遗传成分上关系更近，而滇姜花（白茎型）与滇姜花（紫茎型）在遗传成分上更相似，从而导致滇姜花（紫茎型）与草果药的杂交种子活力较高。

3.3 4 种（型）姜花属植物种间隔离机制的推断

物种的形成与维持需要种间隔离机制作为保证。隔离机制根据在植物生活史中起作用的不同阶段一般划分为合子前阻障和合子后阻障。合子前阻障包括生态地理阻障、开花时间阻障、传粉者阻障，另外还包括花粉竞争、配子不亲和；合子后阻障包括杂种不活，不育和杂种衰退（Rieseberg，2007；Schemske，2000）。

合子前阻障由于在植物生活史中发挥作用的阶段比合子后阻障早，被认为是作用大于合子后阻障的重要隔离机制（Kay，2006；Ramsey 等，2003；Rieseberg，2007；Schemske，2000）。圆瓣姜花、草果药和两类型滇姜花在同域分布地区能根据花部形态特征及营养特征相互区分，并未出现因杂交等导致的形态方面的完全混杂。这有可能是由于除配子不亲和及杂种不活外的其它隔离机制，特别是合子前阻障，在维持种间相对独立中发挥着更重要的作用。同域分布的这几种（型）姜花间不存在地理阻障，但这 4 种（型）姜花间，存在一定的开花时间阻障。其中，滇姜花（白茎型）与滇姜花（紫茎型）之间盛花期相差一个月（野外观察数据），虽然有一定的重叠期，但不完全相同的花期在这两种（型）间起了一定的隔离作用。从这 4 种（型）姜花间的花部形态特征及传粉昆虫的特点判断，并无明显的花部机械隔离。在配子竞争方面以及除杂种活力外的其它合子后繁殖阻障，我们也知之甚少。

本研究中的 4 种（型）姜花属植物种间配子亲和性的阻障作用不大，杂交种子虽然具有一定的活力，但都低于自然结实种子活力。配子间不亲和是大多数物种间难以杂交的原因，但是本研究的 4 种（型）姜花种间配子亲和性高，说明配子间亲和性不是主要的隔离机制，有可能是其它更重要的隔离机制在起作用；同时，也暗示这几类姜花属植物间存在种间杂交的可能性。这与 Wood 等（2000）和高江云等（2006）提到的姜花属野外形态方面不易区别，易于形成杂交种的报道是一致的。Ellstrand 等（1996）的研究表明，杂交事件易发生于具有以下特点的类群内：（1）具有以异交为主，且生殖隔离不完全的特点，因此种间杂交能够发生；（2）具有足够的发育上和生态上的灵活性以保证杂种能发育成熟；（3）具有多年生习性和无融合生殖或者营养繁殖的特点，因此杂种即使是部分不育，也有足够长的时间来达到一定程度的繁殖成功。而这 4 种（型）姜花不完全的生殖隔离以及其它与 Ellstrand 等（1996）描述相符的特点使我们推断，这 4 种（型）姜花间可能存在种间杂交。

这 4 种（型）姜花的隔离机制进一步研究不仅需要进一步的野外传粉学操控实验及长期实验观察，也需要分子学证据来检验这些植物间是否存在杂交及基因渐渗现象，以此推断物种形成中的遗传结构变化。

致谢 中国科学院西双版纳热带植物园罗燕江博士、任盘宇先生、郑曼莉和陈智发同学在野外调查及实验中提供了帮助，张志强博士对文章提出了修改建议。

〔参 考 文 献〕

复旦大学遗传研究所译（Stebbins GL，1950），1963. 植物的变异与进化（Variation and Evolution in Plants）[M]. 上海：上海科技出版社，184（New York：Columbia University Press）

高江云，夏永梅，黄加元等，2006. 中国姜科花卉 [M]. 北京：科学出版社，14

高江云，2008. 姜科植物繁殖生态学研究——花寿命的适应意义. 博士学位论文 [M]. 西双版纳：中国科学院西双版纳热带植物园 中国科学院研究生院，43—44

管康林，2009. 种子生理生态学 [M]. 北京：中国农业出版社，46—48

童绍全，1997. 姜花属 [A]. 见：吴征镒，陈书坤主编，云南植物志 第 8 卷 [M]. 北京：科学出版社，555—559

张大勇，2004. 植物生活史进化与繁殖生态学［M］. 北京：科学出版社，112—113

张晓改，2008. 澜沧拉祜族自治县地理概貌［A］. 见：杨卫东主编. 普洱年鉴［M］. 昆明：云南科技出版社，500

Abbott RJ，Ireland HE，Joseph L *et al*.，2005. Recent plant speciation in Britain and Ireland：origins，establishment and evolution of four new hybrid species［J］. *Biology and Environment：Proceedings of the Royal Irish Academy*，**105**（3）：173—183

Ellstrand NC，Whitkus R，Rieseberg LH，1996. Distribution of spontaneous plant hybrids［J］. *Proceedings of the National Academy of Sciences*，**93**（10）：5090—5093

Gao LX（高丽霞），Hu X（胡秀），Liu N（刘念）*et al*.，2008. Cluster analysis of Chinese *Hedychium* based on SRAP markers［J］. *Journal of Systematics and Evolution*（植物分类学报），**46**（6）：899—905

Gajewski W，1957. In：Grant V，1981，Plant Speciation 2nd［M］. New York：Columbia University Press，132

Gong X（龚洵），Pan YZ（潘跃芝），Yang ZY（杨志云），2001. The cross-compatibility of Magnoliaceae［J］. *Acta Botanica Yunnanica*（云南植物研究），**23**（3）：339—344

Grant V，1981. Plant Speciation 2nd［M］. New York：Columbia University Press，71—76

Johnson SD，Steiner KE，2000. Generalization versus specialization in plant pollination systems［J］. *Trends in Ecology and Evolution*，**15**（4）：140—143

Kay KM，2006. Reproductive isolation between two closely related hummingbird-pollinated neotropical gingers［J］. *Evolution*，**60**（3）：538—552

Kress J，Prince LM，Williams KJ，2002. The phylogeny and a new classification of the gingers（Zingiberaceae）：evidence from molecular data［J］. *American Journal of Botany*，**89**（11）：1682—1696

Kunckel d′Herulais J，1910. Rapport des insects lepidopteres avec les fleurs des zingiberacees et en particulier avec celles des *Hedychium*［J］. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l′Academie des Sciences*，1153—1155

Lankinen Å，Skogsmyr I，2001. The effect of pollen competition on maintenance of variation in fertilisation ability［J］. *Oikos*，**93**（3）：459—469

Li Y（李亚），Zhang YH（张莹花），Wang JH（王继和）*et al*.，2007. The influence of different salt stress on seed germination of *Haloxylon ammodendron*［J］. *Chinese Agricultural Science Bulletin*（中国农学通报），**23**（9）：293—297

Müller F，1890. Miscellen. Kreuzung von *Hedychium*［J］. *Abhandlungen Herausgegeben vom Naturwissenschaftlichen Vereine zu Bremen*，**11**：444

Ramsey J，Bradshaw HD，Schemske DW，2003. Components of reproductive isolation between the monkeyflowers *Mimulus lewisii* and *M. cardinalis*（Phrymaceae）［J］. *Evolution*，**57**（7）：1520—1534

Rieseberg LH，2007. Plant speciation［J］. *Science*，**317**（5840）：910—914

Savolainen V，Anstett MC，Lexer C *et al*.，2006. Sympatric speciation in palms on an oceanic island［J］. *Nature*，**441**（7090）：210—213

Schemske DW，2000. Understanding the origin of species［J］. *Evolution*，**54**（3）：1069—1073

Vogel S，1984. Blutensekrete als akzessorischer Pollenkitt［A］. In：Ehrendorfer F ed. Mitteilungsband Botaniker-Tagung Wien［M］. Vienna：Institut fuer Botanik，Universitaet Wien，123

Waser NM，Chittka L，Price MV *et al*.，1996. Generalization in pollination systems，and why it matters［J］. *Ecology*，**77**（4）：1043—1066

Wood TH，Whitten WM，Williams NH，2000. Phylogeny of *Hedychium* and related genera（Zingiberaceae）based on ITS sequence data［J］. *Edinburgh Journal of Botany*，**57**（2）：261—270

Wu TL，Larsen K，2000. Zingiberaceae［A］. In：Wu ZY，Raven PH eds. *Flora of China*［M］. Beijing：Science Press，332—376

Wu TL（吴德邻），1994. Phytogeography of the Zingiberaceae［J］. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*（热带亚热带植物学报），**2**（2）：1—14

Wu ZK（吴之坤），Zhang CQ（张长芹），Cheng ZY（程治英），2005. The effect of different culture media and conditions on seed germination and seedling growth of three Primroses［J］. *Seed*（种子），**24**（4）：1—5

Xiong YH（熊友华），Liu N（刘念），Huang BH（黄邦海），2006. The preliminary interspecies breeding study of *Hedychium*［J］. *Guangdong Agricultural Sciences*（广东农业科学），（12）：42—43

Yang CF（杨春锋），Guo YH（郭友好），2005. Floral evolution：beyond traditional viewpoint of pollinator mediated floral design［J］. *Chinese Science Bulletin*（科学通报），**50**（23）：2578—2582

Yost JM，Kay KM，2009. The evolution of postpollination reproductive isolation in *Costus*［J］. *Sexual Plant Reproduction*，**22**（4）：247—255

Zhang JL（张敬丽），Zhang CQ（张长芹），Wu ZK（吴之坤）*et al*.，2007. The potential roles of interspecific pollination in natural hybridization of *Rhododendron* species in Yunnan，China［J］. *Biodiversity Science*（生物多样性），**15**（6）：658—666